



TITLE:

現行結核菌耐性検査法に就いての
吟味：〔第3篇〕耐性検査に於ける
耐性菌の量的分布の判定に影響を
及ぼす諸因子に就いて

AUTHOR(S):

吉原, 宣方

CITATION:

吉原, 宣方. 現行結核菌耐性検査法に就いての吟味：〔第3篇〕耐性検査に於ける耐性菌の量的分布の判定に影響を及ぼす諸因子に就いて. 京都大學結核研究所紀要 1964, 12(2): 129-142

ISSUE DATE:

1964-03

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/51880>

RIGHT:

現行結核菌耐性検査法に就いての吟味

〔第 3 篇〕 耐性検査に於ける耐性菌の量的分布の判定に 影響を及ぼす諸因子に就いて

京都大学結核研究所化学療法部 (主任 教授 内藤益一)

大学院学生 吉 原 宣 方

(昭39. 1.30受付)

第1章 緒 言

著者は第2篇¹⁾に於て、耐性培地、接種菌量、培養期間等の因子が結核菌耐性検査に於ける耐性の高さの判定に及ぼす影響について述べた。

即ち、小川培地では SM は培地 PH の変動によって制菌力が変化し、アルカリ性よりも酸性側に傾くにつれて制菌力が弱まり、従って3%小川培地に生理的食塩水菌液を接種した場合には、SM の耐性度は実際よりも高く出る事が判った。

又、接種菌量が多い程、培養期間が長い程、制菌力は弱く現われ、特に PAS に於て著明であった。

他方、耐性培地の保存条件では保存期間が長い程、又保存温度が高い程、培地力価は減弱していく傾向がみられ、特にこの傾向は INH に於て著明であることが判った。

又、故意に耐性培地の力価が低下する様な条件で調製した培地を用いた場合は耐性検査に於ける耐性の高さの判定に関して耐性度は実際の値より高く表現され、未だ曾つて薬剤に接触した事のない全くの感受性菌ですら若干の耐性があるかの如く誤った成績の出る事を明らかにした。

临床上、どの程度の高さの耐性菌がどの程度の割合に存在すれば、耐性ありと判断すべきであるかという、耐性の臨床的限界に就いては今日尚、議論の点が多い²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾。然しながら、臨床的な耐性検査の目的は未だ、薬が効く可能

性があるかどうかと云う事と、当該薬剤は既に多少とも効果が落ちているかどうかとの2点を知る事にしぼられるのではなかろうか。

厚生省の衛生検査指針⁷⁾に定められている現行の結核菌耐性検査では、耐性培地及び対照培地に一定量 (10^{-3}mg 又は 10^{-4}mg) の菌を接種し、一定期間 (3 週又は 4 週) 培養の後に判定を行ない、薬剤を含む耐性培地に於ける被検株の発育菌量が、薬剤を含まぬ対照培地のそれに比して集落数が量的に75%以上の場合を完全耐性 (但し、対照培地の発育菌集落数が25コ以上であること) とし、それ以下の場合を不完全耐性 (但し、集落数が多い場合で75%以下ということが明瞭でない場合には完全耐性〔不確定〕とす) とし、全く発育しなかった場合を感受性としている。

この様に、耐性培地と対照培地に於ける発育菌量の量的比較によって判定を行なう場合には、著者も第1篇⁸⁾に於て触れた如く、接種菌量の多寡によって量的に本来不完全耐性である株が、或る場合には完全耐性に、或る場合には感受性に表現されるという甚だ不安定な成績が見られた。

それ故、厚生省衛生検査指針⁷⁾では接種菌量は培地1本あたり 10^{-3}mg 又は 10^{-4}mg と厳密に統一規定してある。しかし現状は、第1篇⁸⁾に述べた如く、著者が調査した関係12施設の接種菌量は、施設によって異なっており、接種菌量が規定されている量より少ない施設が1施設、

多い施設が7施設あり、規定通りの施設が4施設であった。

接種菌量が余りに多すぎると、本来不完全耐性である株が完全耐性と判定され、感受性菌の存在が不明瞭となるばかりでなく、自然耐性菌の出現によって、感受性株が不完全耐性と判定される可能性もあると考えられる⁹⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾。

接種菌量の他にも耐性検査に於ける耐性菌の量的分布の判定に関しては、継代培養⁶⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾、判定の時期、集落採取の仕方等によって、被検株が full population でない場合には、耐性菌の量的分布に変動が生ずると考えられる。

そこで著者は本篇では、これらの因子につき検討を行なった。

第2章 実験方法及び実験成績

第1節 菌液濃度と生菌数との関係

第1項 増菌用培地の種類・培養期間と 1mg 中の生菌単位数

1. 実験材料

使用培地：1%小川培地、10%血清加キルヒナ培地、Tween-albumin 培地

使用菌株：H37Rv 感受性株

使用分散媒：Dubos 原液

2. 実験方法

予め、1%小川培地に上記菌株を2, 4, 6, 8週間培養したもの、及び10%血清加 Kirchner 液体培地の表面に2, 4週間培養したもの及び、Tween-albumin 培地に1, 2週間培養したもの計8通りの株を用意した。各々から白金耳を用いて約10mg位の菌量を別々の8コのガラス玉入コルベンに採り、夫々正味1分間手振りにより菌塊を磨砕し、Dubos 原液を加え、なるべく均等に分散する様に菌液を作った。

しかる後、0.15mg/ccの硫酸バリウム液（厚生者の検査指針の定める標準液）の濁度と肉眼的に比濁し、等しくなるまで希釈した菌液の濃度を1mg/ccとみなした。更に、Bausch & LombのSpectrocolorimeterでPer Cent Transmissionを測定しておいて、後日の修正に資した。

これら8通りの菌液を夫々、 10^3 倍、 10^4 倍、

10^5 倍、 10^6 倍に希釈し、培地1本あたり0.1ccを1%小川培地3本宛に接種し、 37°C の孵卵器内に4週間培養し、発育集落数を数えた。

3. 実験成績

実験の結果は表1に示す如くであった。硫酸バリウムの標準液と肉眼的に比濁して決めた1mg/ccの菌液をBausch & LombのSpectrocolorimeterを用い、波長 $475\text{m}\mu$ でPer Cent Transmissionを測定してみると表1の如く、60%Tr~71%Trで48%Tr (48% Transmissionが1mg/ccの菌液に相当する)に比べ一般にうすい傾向がみられた。

従って、実際培地上に発育した集落数（実験方法の所で述べた 10^5 倍希釈菌液を0.1cc接種した場合の培地3本に発育した集落数の平均値）は単位菌液濃度（即ち1mg/cc）当りの集落数に修正する必要があった。

そこで湿菌濃度とPer Cent Transmissionとの関係図表²⁴⁾から、実際に接種された菌液濃度を求めそれで発育集落数を除した値を表1の右端の欄に示し、修正発育生菌数とした。

之によると、増菌用培地が異なると同じ単位菌量1mgでもその中に含まれている発育可能な“生菌単位数”は異なっていた。例えば同じ2週間の培養期間でも、Tween-albumin 培地で 344×10^5 コ、Kirchner 表面培養で 208×10^5 コ、1%小川培地で 31×10^5 コであった。即ち小川培地で生菌数の割合は最も少なく、小川培地よりKirchner 表面培養に多く、Tween-albumin 培地で最も多かった。

同じ培地でも培養期間の長短で生菌数の割合は異なっていた。即ち、1%小川培地4週間培養での1mg中の生菌単位数は 29×10^5 コ、6週間で 17×10^5 コ、8週間で 10×10^5 コであって、8週目の生菌数は4週目のそれに比して約1/3に減少していた。Kirchner 表面培養でも2週間目で 208×10^5 コ、4週目で 113×10^5 コで約1/2に減少していた。Tween-albumin 培地では1週間目で 356×10^5 コ、2週目で 344×10^5 コであった。

一般に培養期間が長くなるにつれて生菌数の割合は減少して行く傾向のあることが判った。

表 1 増菌用培地の種類・培養期間と 1mg 中の生菌単位数

培養期間	使用培地	発育生菌単位数	菌液濃度		修正発育生菌単位数
			*Per Cent Transmission	mg. per cc	
1 週	Tween-albumin 培地	207×10^5 コ	66% Tr	0.58mg/cc	356×10^5 コ
2 週	Tween-albumin 培地	200×10^5	66	0.58	344×10^5
	Kirchner 表面培養	100×10^5	71	0.48	208×10^5
	1% 小川培地	16×10^5	69	0.52	31×10^5
4 週	Kirchner 表面培養	70×10^5	64	0.62	113×10^5
	1% 小川培地	16×10^5	68	0.54	29×10^5
6 週	1% 小川培地	11×10^5	62	0.66	17×10^5
8 週	1% 小川培地	7×10^5	60	0.70	10×10^5

* Per Cent Transmission は Bausch & Lomb の Spectrocolorimeter で測定した値

表 2 ガラス玉入コルベン法による集落磨砕時間と 1mg 中の生菌単位数

磨砕時間	発育生菌単位数	菌液濃度		修正発育生菌単位数
		*Per Cent Transmission	mg. per cc	
10秒	126×10^4 コ	82% Tr.	0.28mg/cc	453×10^4 コ
30秒	113×10^4	77	0.37	306×10^4
60秒	106×10^4	77	0.37	288×10^4
2分	13×10^4	81	0.30	44×10^4
5分	7×10^4	82	0.28	27×10^4
10分	3×10^3	85	0.23	1×10^4

* Per Cent Transmission は Bausch & Lomb の Spectrocolorimeter で測定した値

第2項 ガラス玉入りコルベン法による集落磨砕時間と 1mg 中の生菌単位数

1. 実験材料

使用培地：1%小川培地

使用菌株：1%小川培地に4週間培養した H37Rv 感受性株

使用分散媒：Dubos 原液

2. 実験方法

上記の菌株を白金耳により目分量で菌量約 10mg づつを6コガラス玉入コルベンに採り、正味の手振磨砕時間を10秒、30秒、60秒、2分、5分、10分の6通りとし各々に Dubos 原液を加えて均等なる菌液を作った。第1項の実験方法で述べたと同様の方法に従って、1mg 中の生菌単位数を測定した。

3. 実験成績

表2に示した如く、磨砕時間正味10秒の場合、生菌単位数は 453×10^4 コ、30秒で 306×10^4 コ、

60秒で 288×10^4 コ、2分で 44×10^4 コ、5分で 27×10^4 コ、10分で 1×10^4 コとなった。

結局、磨砕時間が長くなるにつれて生菌数は著明に減少する傾向がみられ、磨砕時間10秒の場合の生菌単位数を1とすると60秒で約1/2に減少し、2分で約1/10、10分では約1/500に減少した。

第3項 菌液分散媒の種類と 1mg 中の生菌単位数

1. 実験材料

使用培地：1%小川培地

使用菌株：1%小川培地に4週間培養した H37Rv 感受性株

使用分散媒：滅菌蒸留水、生理的食塩水、0.05% Tween 80 溶液、4% 苛性ソーダ溶液

2. 実験方法

ガラス玉入コルベン4個に上記の菌株から目分量で菌量約 10mg づつを白金耳にて各コルベ

表 3 分散媒の種類と 1mg 中の生菌単位数

分散媒	発育生菌単位数	菌液濃度		修正発育生菌単位数
		*Per Cent Transmission	mg. per cc	
生理的食塩水	115×10^5 コ	43% Tr	1.15mg/cc	100×10^5 コ
蒸溜水	104×10^5	45	1.08	96×10^5
0.05% Tween 80	92×10^5	47	1.05	87×10^5
4% NaOH 溶液	47×10^5	39	1.28	37×10^5

* Per Cent Transmissien は Bausoh & Lomb の Spectrocolorimeter にて測定した値

ンに移し、正味 1 分間ずつ同じ様に手振りにより菌塊を磨碎し、上記の溶液を各々別々のコルベンに加え全量 5cc の菌液を作った。第 1 項の実験方法で述べたと同様の方法に従って、1mg 中の生菌単位数を測定した。

3. 実験成績

実験結果は表 3 に示す如くであった。第 1 項の実験成績で述べた様な方法で、発育生菌単位数を菌液の濃度で修正してみると、表 3 の右端の欄の如くなった。

これで見ると、菌液の分散媒によって発育生菌単位数は多少異なっており、生理的食塩水の場合は量菌 1mg 中、 100×10^5 コ、蒸溜水では 96×10^5 コ、0.05% Tween 80 液では 87×10^5 コであった。4% NaOH 溶液の場合は 37×10^5 コであって、上記 3 つの場合に比べて発育生菌数は少なく、およそ 1/2~1/3 程度であった。

第 4 項 遠心沈澱法による、菌液中の粗大菌塊除去と 1mg 中の生菌単位数

1. 実験材料

使用培地：1% 小川培地

使用菌株：1% 小川培地に 4 週間培養した H37Rv 感受性株

使用分散媒：Dubos 原液

2. 実験方法

上記菌株より白金耳により目分量で菌量約 10mg をガラス玉入コルベンに採り、手振りによって正味 1 分間磨碎し、Dubos 原液を加えて菌液を作り、遠沈せずそのまま光電管にかけて濃度を測定したもの及び 1 分間 800~1,000 回転の速度で 1 分間、3 分間、5 分間、10 分間遠心沈澱を行なって夫々の上清を光電管にかけて濃度を決め、培地 1 本あたり 10^{-4} mg の菌量を 1%

小川地 12 本ずつに接種し、37°C の孵卵器内に培養し 4 週目に、発育した集落を数えて生菌単位数を測定した。

3. 実験成績

表 4 に示す如くで、遠沈しない場合の単位重量 (1mg) あたりの生菌単位数は、 171×10^4 コ、であった。

遠沈時間正味 1 分間の場合は、 112×10^4 コ、3 分間の場合は 173×10^4 コ、5 分間の場合は、 165×10^4 コ、10 分間の場合は、 140×10^4 コであって著明な差は認めなかった。

尚、表 4 中に示した如く、この場合の各生菌単位数は、培地 12 本に発育した集落数の合計を 12 で除して平均値を求め、1 本に発育した集落数とした。

表 4 遠沈による粗大菌塊除去と 1mg 中の生菌単位数

遠沈時間	発育集落数 (12本の 合計)	培地 1 本の 集落数	1mg 中の 生菌単位数
0	2050	171	171×10^4 コ
1 分	1350	112	112×10^4
3 分	2067	173	173×10^4
5 分	1982	165	165×10^4
10 分	1716	142	142×10^4

遠沈速度：800~1000 回転/分

第 5 項 菌液比濁に用いる標準液の種類と 1mg 中の生菌単位数

1. 実験材料

使用培地：1% 小川培地

使用菌株：10% 血清加 Kirchner 培地の表面に 10 日間培養した H37Rv 感受性株

使用分散媒：Dubos 原液

使用比濁用標準液：硫酸バリウム溶液 (0.1
5mg/cc)

腸チフス診断液 (5mg/cc)

2. 実験方法

上記10%血清加 Kirchner 表面に発育した菌膜を白金耳を用いて釣菌して、シャーレの中に2つ折りにした滅菌濾紙にはさみとり、37℃の孵卵器内に1時間放置した。

次いで、滅菌した蓋付きガラス製秤量ビンの中に移し、化学天秤にて菌量を正確に測定した。この場合 9.8mg であった。

ガラス玉入コルベンに取って正味2分間手振りで磨砕し、Dubos 原液を菌量 1mg あたり 1cc の割合（この場合 9.8cc）に加えて菌液を作った。

次に、別のガラス玉入コルベンに上記の菌膜から目分量で約 10mg 程度の菌量を釣菌し、型の如く、手振り法による菌塊磨砕後、Dubos 原液を加えて均等な菌液を作り、この菌液を太さの等しい3本の試験管に分注した。

その中の1本は先に秤量して作った 1mg/cc の結核菌液の濁度と、次の1本は 0.15mg/cc の硫酸バリウム溶液の濁度と、残りの1本は 1mg/cc の腸チフス診断液の濁度と肉眼的に比濁して各々の濁度が等しくなる様に菌液を希釈した。かくして出来た3本の菌液も光電管にかけて、Per Cent Transmission を測定しておいた。

これら3つの菌液を用いて、第1項の実験方法の所で述べたと同じ方法で生菌単位数を測定した。

尚、比濁の標準液として用いた 0.15mg/cc の硫酸バリウム液、1mg/cc の腸チフス診断液も結核菌を秤量して作った 1mg/cc の菌液も、光

電管にて Per Cent Transmission を測定しておいて、肉眼判定の菌液濃度との誤差の中についても検討した。

3. 実験成績

実験の結果は表5に示す如くであって、第1項の実験成績の所で述べた様な方法で、発育生菌数を菌液の濃度で修正してみると表5の右端の欄の如くなった。

即ち結核菌を秤量して作った 1mg/cc の菌液と比濁して濃度を決めた場合の単位重量 (1mg) あたりの生菌単位数は 53×10^5 コ、チフス診断液と比濁して濃度を決めた場合は 75×10^5 コ、硫酸バリウム液と比濁して濃度を決めた場合は 58×10^5 コであって、標準液が異なっても著明な差は認めなかった。

標準液そのものの濃度は表5に示す如くで、結核菌を秤量して作った 1mg/cc の菌液は、光電管で47% Transmission を示したが、腸チフス診断液 (1mg/cc) は32% Transmission を、硫酸バリウムは48% Transmission を示した。

上記3つの標準液と肉眼的に比濁して決めた菌液は表5の如く、夫々49%、40%、45%の Transmission 値を示し、肉眼的判定による誤差は2%~8% Transmission 程度であって、腸チフス診断液が標準液の場合の誤差が最も大きかった。

第2節 接種菌量と耐性菌の量的分布との関係

第1項 標準耐性培地及び非標準（不良）耐性培地における接種菌量の影響

1. 実験材料

使用培地：1%小川培地、3%小川培地

使用薬剤：Dihydrostreptomycin (DHSM),
Combined Streptomycin (CSM),
PAS-Na, INH.

表 5 標準液の種類と 1mg 中の生菌単位数

標準液			発育生菌 単 位 数	菌 液 濃 度		修正発育生菌 単 位 数
	Per Cent Transmission	mg. per cc		Per Cent	mg. per cc	
結核菌液(秤量)	47%Tr	1mg/cc	52×10 ⁵ コ	49%Tr	0.98mg/cc	53×10 ⁵ コ
腸チフス診断液	32%Tr	1mg/cc	94×10 ⁵ コ	40%Tr	1.25mg/cc	75×10 ⁵ コ
硫酸バリウム液	48%Tr	0.15mg/cc	65×10 ⁵ コ	45%Tr	1.10mg/cc	58×10 ⁵ コ

* Per Cent Transmission は Bausch & Lomb の Spectrocolorimeter にて測定した値

使用菌株：Tween-albumin 培地に10日間
培養した H37Rv 感受性株
使用分散媒：Dubos 原液

2. 実験方法

厚生省の衛生検査指針に準じて1%小川培地を用い、DHSM 100γ, 10γ, 5γ, 1γ, PAS 100γ, 10γ, 5γ, 1γ, 0.5γ (DHSM はすべて2倍量, PAS-Na はすべて1.38倍量添加した), INH 10.0γ, 5.0γ, 2.0γ, 1.0γ, 0.5γ, 0.1γ の耐性培地及び対照培地を作り、90℃ 1時間加熱凝固滅菌し室温に保存し1週間以内のものを標準耐性培地とした。他方、検査指針とは異った作製条件、即ち表6に示した様に SM 耐性培地では1%小川培地の代りに3%小川培地を用い、DHSM の代りに CSM を用いて2倍量を添加し、PAS耐性培地ではPAS-Naを秤量して1.38倍量でなく1倍量のみを加え、INH 耐性培地では注射薬の古いもの(6ヶ月以上経過しているもの)を使用し、1倍量を加え上記の耐性培地と表現上同じγ数の耐性培地及び対照培地を作った。之等の非標準培地に於ては凝固器の温度が90℃に上ってから培地を入れるのではなく初めから入れておき90℃1時間加熱滅菌し、出来上った耐性培地を37℃の孵卵器内に8週間保存した。之を非標準(不良)耐性培地とした。この不良条件は第1篇⁹⁾に述べた如く12施設の耐性検査術式の実態調査成績から一般にあり得るものを入れたのである。

上記の耐性培地、対照培地に上記菌株を培地1本あたり 3×10^{-1} mg, 10^{-1} mg, 10^{-2} mg, 10^{-3}

mg, 10^{-4} mg, 10^{-5} mg, 10^{-6} mg, 10^{-7} mg, 10^{-8} mg, 10^{-9} mg, 10^{-10} mg, の11段階の菌量を接種し、37℃の孵卵器内に培養し、3週、4週、6週、8週目毎に発育した集落数を数えた。

3. 実験成績

全耐性培地を培養後、3、4、6、8週目毎に判定を行なったがその中、4週及び6週の判定成績を示すと表7、表8、表9の如くとなった。

まず4週判定では、標準耐性培地に於てはSM1γ/ccを除く他の耐性培地には感性菌は全く発育しておらず、SM1γ/cc培地でも接種菌量が 10^{-2} mg以上の場合に若干の集落数(2~21コ)が発生したに過ぎなかった。

之に対し、非標準培地ではSM1γ/cc, INH 0.1γ/cc 培地には薬剤を含まぬ対照培地と殆ど同じ程度に集落数の発生があり、PAS0.5γ/cc, INH2γ/cc, INH1γ/cc 培地にも接種菌量が最も多い0.3mgγの場合に、夫々2コ、1コ、4コの集落発生を認めた。

しかしながらSM 5γ/cc以上、PAS 1γ/cc, 以上、INH 5γ/cc以上の培地には接種菌量が0.3mgの様に大量の場合でも集落の発生を認めなかった。

即ち、不良培地で接種菌量を0.3mgと大量を選んでも4週判定では、SM10γ/cc, PAS1γ/ccに耐性の菌は証明されないから臨床の実際には差し支えないと思われるが、INHの場合は0.1mg以下でなければ誤の成績を得る恐れがある。

次に6週判定では、表7に示す如く、SM 標準

表 6 非標準(不良)耐性培地

	SM 耐性培地	PAS 耐性培地	INH 耐性培地
使用薬剤の種類	複合 SM	PAS-Na (秤量)	INH 注射薬(古いもの)
薬剤の添加量	2 倍 量	1 倍 量	1 倍 量
培 地 の 種 類	3%小川培地	1%小川培地	1%小川培地
培地中に含有される薬剤濃度の種類 (γ/cc)	1, 5, 10, 100	0.5, 1, 5, 10, 100	0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0
凝固温度・時間	90℃ 1時間。但し、凝固器の温度が90℃に上昇してから培地を入れるのではなく、初めから入れておく。		
保存温度・期間	37℃ の孵卵器に8週間保存		

耐性培地に於ては $1\gamma/\text{cc}$ 培地の場合、4週判定と大差を認めなかった。SM $5\gamma/\text{cc}$, SM $10\gamma/\text{cc}$, SM $100\gamma/\text{cc}$ 各培地には4週判定と同じく発育集落を認めなかった。

之に対し、SM 非標準培地では SM $5\gamma/\text{cc}$ 培

地にも接種菌量が 0.3mg の場合には発育菌量を認め、不完全耐性と判定された。SM $10\gamma/\text{cc}$ 培地にも接種菌量が 0.3mg の場合には45コの発育集落数、 0.1mg の場合には11コの発育集落数を認めた。

表 7 標準耐性培地及び非標準耐性培地と接種菌量

4週判定及び6週判定

No.	接 種 菌 量 (mg)	对 照 培 地				SM 耐 性 培 地															
						100γ/cc				10γ/cc				5γ/cc				1γ/cc			
		標 1 %		非 3 %		標 1 %		非 3 %		標 1 %		非 3 %		標 1 %		非 3 %		標 1 %		非 3 %	
		4 週	6 週	4 週	6 週	4 週	6 週	4 週	6 週	4 週	6 週	4 週	6 週	4 週	6 週	4 週	6 週	4 週	6 週	4 週	6 週
a	3×10 ⁻¹	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	45	0	0	0	++	21	51	+++	+++
b	1×10 ⁻¹	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	0	++	3	16	+++	+++
c	10 ⁻²	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	54	2	7	+++	+++
d	10 ⁻³	+++	+++	++	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	+++	+++
e	10 ⁻⁴	++	++	94	95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	132	132
f	10 ⁻⁵	135	135	7	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	69	69
g	10 ⁻⁶	24	24	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	18
h	10 ⁻⁷	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	8
i	10 ⁻⁸	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
j	10 ⁻⁹	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
k	10 ⁻¹⁰	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

標 1 % は 1 % 小川耐性培地 (標準法によるもの)

非 3 % は 3 % 小川耐性培地 (標準法によらぬもの)

表 8 標準耐性培地及び非標準耐性培地と接種菌量

4週判定及び6週判定

No.	接 種 菌 量 (mg)	対 照 培 地				PAS 耐 性 培 地																				
						100γ/cc				10γ/cc				5γ/cc				1γ/cc				0.5γ/cc				
		標 1 %		非 1 %		標 1 %		非 1 %		標 1 %		非 1 %		標 1 %		非 1 %		標 1 %		非 1 %		標 1 %		非 1 %		
		4 週	6 週	4 週	6 週	4週	6週	4週	6週	4週	6週	4週	6週	4週	6週	4週	6週	4週	6週	4週	6週	4週	6週	4週	6週	
a	3×10 ⁻¹	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	27
b	1×10 ⁻¹	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
c	10 ⁻²	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
d	10 ⁻³	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
e	10 ⁻⁴	++	++	++	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
f	10 ⁻⁵	135	135	94	94	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
g	10 ⁻⁶	24	24	9	28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
h	10 ⁻⁷	0	1	2	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
i	10 ⁻⁸	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
j	10 ⁻⁹	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
k	10 ⁻¹⁰	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

標 1 % は 1 % 小川耐性培地 (標準法によるもの)

非 1 % は 1 % 小川耐性培地 (標準法によらぬもの)

表 9 標準耐性培地及び非標準耐性培地と接種菌量

4 週判定及び 6 週判定

No.	接 種 菌 量 (mg)	对 照 培 地				INH 耐 性 培 地																							
						10γ/cc				5γ/cc				2γ/cc				1γ/cc				0.5γ/cc				0.1γ/cc			
		標 1 %		非 1 %		標 1 %	非 1 %	標 1 %	非 1 %	標 1 %	非 1 %	標 1 %	非 1 %	標 1 %	非 1 %	標 1 %	非 1 %	標 1 %	非 1 %	標 1 %	非 1 %								
		4 週	6 週	4 週	6 週	4 週	6 週	4 週	6 週	4 週	6 週	4 週	6 週	4 週	6 週	4 週	6 週	4 週	6 週	4 週	6 週	4 週	6 週						
a	3×10 ⁻¹	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	4	4	0	0	0	0	0	1	+++	+++
b	1×10 ⁻¹	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+++	+++	
c	10 ⁻²	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++	++	
d	10 ⁻³	++	++	++	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++	++	
e	10 ⁻⁴	++	++	++	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	194	194	
f	10 ⁻⁵	135	135	94	94	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	38	38	
g	10 ⁻⁶	24	24	9	28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	
h	10 ⁻⁷	0	1	2	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
i	10 ⁻⁸	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
j	10 ⁻⁹	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
k	10 ⁻¹⁰	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

標 1% は 1% 小川耐性培地 (標準法によるもの)

非 1% は 1% 小川耐性培地 (標準法によらぬもの)

次に, PAS 標準培地に於ては 4 週判定の場合と全く同じであって, 0.5 γ /cc 以上の耐性培地には発育集落を認めなかった。

之に対し, PAS非標準耐性培地では 4 週判定ではみられなかった 1 γ /cc 培地にも接種菌量が 0.1mg, 0.3mg の場合には夫々, 1 コ, 2 コの発育集落数を認め, 不完全耐性と判定された。しかしながら 5 γ /cc 以上の耐性培地には 4 週判定の場合と同じく, 接種菌量が多い場合 (0.3mg) でも 4 週判定の場合と同じく発育集落数を認めなかった。

INH 標準培地では, 4 週判定の場合に発育集落を認めなかった 0.1 γ /cc 培地に, 接種菌量が 0.3mg の時のみ, 1 コの発育集落を認めた他は, 4 週判定の場合と全く同じであって 0.5 γ /cc 以上の耐性培地には発育集落を認めなかった。

INH 非標準培地では 4 週判定の場合と同じであって, 0.1 γ /cc耐性培地では対照培地と殆ど同じ程度の発育菌量であった。INH 1 γ /cc 及び 2 γ /cc 耐性培地では接種菌量が 0.3mg の場合のみ, 4 コ, 1 コの発育集落を認めた。しかしながら 5 γ /cc, 10 γ /cc 耐性培地には接種菌量が多い場合にも発育集落を認めなかった。

第 2 項 接種菌量と耐性菌検出率

1. 実験材料

使用培地: 1% 小川培地

使用薬剤: DHSM.

使用菌株: 1% 小川培地に馴らした H37Rv
R-SM 10 γ 耐性株及び H37Rv
感受性株

使用分散媒: Dubos 原液

2. 実験方法

まず 1% 小川培地で DHSM を 20 γ /cc に含む培地(力価 10 γ /cc)と DHSM を含まぬ対照培地の 2 種類の培地を作った。次に上記 SM 耐性株と感受性株を用いて SM 耐性菌の含まれる割合が 50%, 20%, 10%, 約 1%, 約 0.1%, 約 0.01% となる様な人工耐性株を作った。この 6 種類の株の他に, SM 耐性菌のみのもの, 感受性菌のみのものを用いて SM 10 γ /cc 培地, 対照培地の各々に 1 本あたり 10 $^{-1}$ mg, 10 $^{-2}$ mg, 10 $^{-3}$ mg, 10 $^{-4}$ mg, 10 $^{-5}$ mg, 10 $^{-6}$ mg, 10 $^{-7}$ mg, 10 $^{-8}$ mg の 8 段階の菌量を接種し, 37°C の孵卵器内に培養し 3 週目及び 4 週目に判定を行なった。

3. 実験成績

その結果は表10に示す如くで, 接種菌量は同

接種菌量が 10^{-1} mg の場合は、100%~10%耐性株はすべて発育菌量は(卅)に達し、対照培

従って、10%~20%耐性株で逆に感受性菌の存在を明らかにするためには、接種菌量は 10^{-3} mg 以下であることが必要であった。即ち、

4 週判定

[illegible]

表 11 至 適 接 種 菌 量

	SM 耐 性 菌 含 有 率					
	約0.01%	約0.1%	約1%	10%	20%	50%
耐性菌検出に必要な最少接種菌量	10^{-1} mg以上	10^{-2} mg以上	10^{-3} mg以上	10^{-4} mg以上	10^{-5} mg以上	10^{-6} mg以上
感受性菌検出に必要な最大接種菌量	10^0 mg以下	10^{-1} mg以下	10^{-2} mg以下	10^{-3} mg以下	10^{-4} mg以下	10^{-5} mg以下

* 自然耐性菌の混入するおそれがある。

感受性菌の存在を検出するためには耐性菌の含有率が比較的高い場合には、その含有率に応じて接種菌量に上限のあることが判った。

第3節 集落採取菌数と耐性分布との関係

1. 実験材料

使用培地：DHSM $10\gamma/\text{cc}$ ($20\gamma/\text{cc}$), PAS $1\gamma/\text{cc}$ (PAS-Na $1.38\gamma/\text{cc}$), INH $1\gamma/\text{cc}$ の各 1% 小川耐性培地及び 1% 小川培地

使用分散媒：生理的食塩水、石油ベンジン

使用菌株：H37Rv: H37Rv R-INH: H37Rv R-PAS: H37Rv R-SM = 1000: 100: 10: 1 の割合に混合して、種々の接種菌量の下に 1% 小川培地に、 37°C の孵卵器内に 5 週間培養し、斜面上に一面に発育したものから、数えられる程度の菌発育のものまでを作り、採取集落数の少ない場合は数えられる程度のものを選び、全集落の約 1/3 又は全集落の場合には培地斜面全面に発育したものを選んで菌を採取した。

尚、上記 H37Rv は感受性菌を示し、H37Rv R-INH は INH 耐性菌で耐性の高さは $5\gamma/\text{cc}$ 以上で、catalase (+) を示す。H37Rv R-PAS は PAS 耐性菌で $25\gamma/\text{cc}$ 以上、H37Rv R-SM は SM 耐性菌で $10^4\gamma/\text{cc}$ 以上の耐性の高さを示すものであって、各菌は 1% 小川培地に数代継代培養をして小川培地に馴らした研究室保存菌株である。

2. 実験方法

上記の如くして培養した培地斜面より、大集

落 1 コのみを採取し、ガラス玉入コルベンにより手振り時間正味 1 分間、生理的食塩水を入れて均等な菌液をつくり、上記の耐性検査用培地に培地 1 本あたり 10^{-3}mg の菌量を接種した。

又、採取集落数 3~5 コの場合、集落数 10 コの場合、培地斜面上の約 1/3 の集落数、殆ど全集落から採取した場合も同様にガラス玉入コルベンにて均等な菌液をつくり、培地 1 本あたり 10^{-3}mg を接種した。但し、集落数の極めて少ない場合は生食水を目分量で減少したので、必ずしも厳密に 10^{-3}mg とは断言出来ない。

別に、石油ベンジンを斜面に流して全集落よりなるべく平等に採る様にしてベンジン菌液を作り、培地 1 本あたり約 10^{-3}mg を接種した。

かくして、全培地を 37°C の孵卵器内に 4 週間、培養後判定を行なった。

3. 実験成績

成績は表12に示す如くであった。表中、最下段の耐性分布の欄は、本節の実験材料のところで述べた使用菌株から予想される耐性分布である。

この表でみると、採取した集落数が 1 コの場合を 4 回実験を行なったが、SM, PAS, INH 各耐性培地のいずれも (-) で、対照培地のみに (+) の発育菌量を認めた場合が 1 回、SM, PAS 各耐性培地に (-) で、INH 耐性培地及び対照培地に (+) の発育菌量を示した場合が 2 回あり、SM, INH 各耐性培地に (-) で、PAS 耐性培地、対照培地の夫々に (+) の発育菌量を示した場合が 1 回あった。

SM 耐性培地に発育を認めたものはなく、約 0.1% に含まれる SM 耐性菌は 4 回の実験では検出されなかった。

次に、採取集落数が 3~5 コの場合を 3 回実

験しているが、SM 耐性培地に(+), PAS 耐性培地に(-), INH 耐性培地に(++)、対照培地に(++)の発育菌量を認めた場合が1回、SM, PAS 各耐性培地に夫々(-)で、INH 培地に(+)(++)、対照培地に(++)の発育菌量を示した場合が2回あった。

次に、採取集落数が10コの場合を2回実験したが、SM, PAS 各耐性培地に(+), INH 耐性培地に(++), 対照培地に(++)の発育菌量を示した場合が1回あり、SM 耐性培地には(-)で、PAS, INH 各耐性培地に(+), 対照培地に(++)の発育菌量を示した場合が1回あった。

次に、採取集落数が全集落の約 1/3、培地斜面上の全集落の場合を夫々2回実験を行ない、更に、培地斜面に石油ベンジンを流して全集落を集めて菌液を作った場合の実験を1回行なった。いずれの実験に於ても SM 耐性培地には(+)(++)、PAS耐性培地には(+)(++) INH 耐性培地には(++)(+++), 対照培地には(++)(+++の発育菌量を示した。

従って、培地斜面上の全集落の約 1/3 以上を採取すれば、耐性菌の検出は可能であった。

他方、耐性菌の量的分布の再現性という点からみると、被検株の構成から予想される耐性検査成績は表の最下欄に示す如くSM(+),PAS(++), INH(++),対照(+++)の発育菌量を示す筈である。

ところで、斜面上の約 1/3 の集落を採取した場合、2回の実験では SM (+), PAS (++), INH(++), 対照(++), 及び SM (+), PAS(+), INH (++)、対照 (++)であって、いずれも予想された成績と異なっていた。

培地の斜面上の集落の殆どすべてから平等に少量づつ採取した場合、2回の実験では SM (+), PAS (++), INH (++)、対照 (++)、及び SM (+), PAS (++), INH (++)、対照(+++)の判定成績を示し、10%に含まれる INH 耐性菌が対照培地の菌発育量(+++)と殆ど同じ発育を示し完全耐性(不確定)と判定された場合が1回みられたが、之が許容されるとすれば略予想される成績を示した。

但し、ベンジンを斜面に流し全集落を採取した場合には、SM(++), PAS (++), INH (++)の

成績を示し、集落数には差がみられたが、INH (++)、対照 (++)で差が認められなかった。即ち、10%に耐性菌を含む場合には完全耐性と判定されたわけで、恐らく菌量が多過ぎたためと思われる。(一般にベンジン菌液は菌量決定が困難である)

表12 集落採取箇数と耐性検査成績

4週判定

集落採取箇数	耐性培地			対照培地
	SM10γ/cc	PAS1γ/cc	INH1γ/cc	
1コ	—	—	—	++
1コ	—	—	++	++
1コ	—	—	++	++
1コ	—	++	—	++
3～5コ	+	—	++	++
3～5コ	—	—	++	++
3～5コ	—	—	+	++
10コ	+	+	++	+++
10コ	—	+	+	+++
斜面1/3	+	++	++	+++
斜面1/3	+	+	++	+++
全斜面	+	++	+++	+++
全斜面	+	++	+++	+++
全斜面(ベンジン)	++	+++	+++	+++
耐性分布	+	++	+++	+++

第3章 総括及び考按

第2篇¹⁾に於て、著者は耐性検査に於ける耐性の高さの判定に影響を及ぼす因子が種々あり、特に耐性培地 PH, 耐性培地保存条件、接種菌量、培養期間の相違によって、SM, PAS, INH の MIC が変化し、制菌力が弱く現われる条件下では耐性度は実際よりも高く表現される事を述べた。

又、上記の諸因子が一度に重なった、いわば最不良の条件下では制菌力はどれ位低下するかに就いても実験的検討を行なった。

既に述べた如く、耐性検査の成績は本質上耐性の高さの判定はもとより、耐性菌の量的分布の面をも正しく示すものであることが要求される。

従って本篇ではどのような方法で耐性検査を行

なえば、主に耐性菌の量的分布の判定を比較的
正しく可能ならしめるかを目標に、接種菌量殊
に接種生菌量、及び集落採取方法が耐性検査に
おける耐性菌の量的分布の判定にどの程度影響
するかについて検討を行ない、更に、耐性検査
成績を臨床に応用する際に、適当と思われる接
種菌量に就いて検討を行なった。

接種菌量と耐性菌検出率の点に関しては、小
森¹⁴⁾は接種菌量の多少により耐性の読みが違っ
てくる事を指摘しており、島田¹⁵⁾は接種菌量が
少なくなるに従って耐性菌の検出率が低下する
事を述べている。

一方、小川(辰)⁹⁾、林(治)¹⁶⁾、島田¹⁷⁾、P. J.
Coletsos¹⁸⁾ は接種菌量が多ければ、見せかけの
耐性が現われる事や、不完全耐性が完全耐性の
姿をとる事を述べている。

更に、小酒井¹²⁾は接種菌量が多い時は全体の
菌の僅か10%の耐性菌でも「完全耐性」となる
としている。

Edwin A. Brosbe et al¹⁹⁾ は耐性菌の量的分
布を正しく知るためには接種菌量を少なくする
必要があると云っており、Georges Canetti²⁰⁾ も
耐性菌が 1~100% 存在すると総べて耐性と表
現される可能性があるから接種菌量は 10^{-5} mg
程度に少なくする必要がある事を述べている。

又、佐藤(直)²¹⁾によれば直接法と間接法によ
る INH 耐性測定誤差の原因は、感受性菌と耐
性菌の混合率の変動の他に、2 検査法間の接種
される菌量の大きさの差に基づくと云ってい
る。

河盛²²⁾らは同一培地を使用した場合の技術差
では、接種菌量の差による事が著明であったと
し、以上の如くいずれも接種菌量の耐性検査成
績に与える影響の重要性を強調している。安保
・束村²³⁾はその点、actual count 法は接種菌
量が一定なので菌量の影響を除外出来るから良
いと述べ、現行法の方が菌量がより多いので
actual count 法によるより、現行法による方が
完全耐性となる率が高いと云っている。

そこで、著者は以上の点を明らかにするため
に研究室保存の H37Rv 感受性株、同 SM 耐性
株及びこれら 2 株を混合作成した50%, 20%,

10%, 約 1 %, 約 0.1%, 約 0.01% 耐性株を被検株
とし、接種菌量を 10^{-1} mg, 10^{-2} mg, 10^{-3} mg……
 10^{-8} mg までの 8 段階とし耐性検査を行ない、
耐性菌検出に関する菌量の影響を調べた。その
結果は表10に示す如く、一般に耐性菌を含む割
合が多い株では接種菌量を多くすると完全耐性
に、逆に耐性菌の少ない株では菌量を少なくす
ると感性に判定された。

従って耐性菌を含む割合に応じて感受性菌を
証明し得る接種菌量には上限があり、反対に耐
性菌を検出し得る接種菌量には下限がある事が
示された。例えば、10%耐性株から感受性菌を
証明するには 10^{-3} mg 以下の菌量を、約 0.01% 耐
性株から耐性菌を確実に検出するには 10^{-1} mg
以上の菌量を植える必要があった。

故に、菌量を 10^{-4} mg と 10^{-1} mg の 2 段階で
接種すれば表10の如く、10%~0.01%の耐性株
から感受性菌及び耐性菌を証明する事が可能で
ある。

次に、現行の耐性検査法に於いては菌量は菌
液の濁度によって決めているが、実際にはたと
え肉眼的には同じ程度の濁度を示していても、
その中に含まれている発育可能な生菌の占める
割合は菌液作成条件によって著しい影響をうけ
た。実際面では、集落採取時に卵培地成分が混
入して菌液の濁度が増すこともありうるし又生
菌の占める割合は表 1 の如く分離増菌用培地に
よっても異なり、Tween-albumin 培地、10%
血清加 Kirchner 培地を用いた時が多く、小川
培地 4 週間培養の生菌単位数はこれらに比べ約
1/10であった。

その上、培養期間が長くなると培地の種類を
問わず生菌数の割合は減少して行った。例え
ば、小川培地 4 週間培養での生菌数を 1 とする
と同じ小川培地 6 週間培養では約 1/2 に、8 週
間培養では約 1/3 に減少した。

次に、生菌数に対するガラス玉入コルベンに
よる菌塊磨砕時間の影響もかなり著明で、実質
10秒間磨砕した時の生菌数を 1 とすると60秒間
では凡そ1/2に、2分間で約 1/10 に、5分間で
約 1/20 に、10分間で約 1/500 に減少した。

この他、遠沈による菌液中の粗大菌塊除去の
有無、分散媒の種類(蒸留水、生理的食塩水、

0.05% Tween 80液, 4% NaOH 溶液), 菌液濃度測定法(比濁計, 0.15mg/cc の BaSO₄ 液との比濁, 腸チフス診断液との比濁, 化学天秤による菌の秤量)による生菌単位数の変動を検討したが余り影響しなかった。

以上の事実から肉眼的に同じ濁度を有していても, その中に含まれている生菌数には著明な差が生じていることもある事が判ったので, 実際の検査の施行に当たっても常に生菌数という事を考慮し, 出来るだけ接種される生菌量が一定になる様に心掛ける必要がある。

次に, 表6に示す様に, 故意に培地力価が低下すると思われる様な不良条件下で耐性検査を行なった場合には, 4週目判定で感受性株が SM 1γ/cc, 及び INH 0.1γ/cc に完全耐性を示し, 6週目判定では接種菌量が 0.1~0.3mg の如く多い場合には SM 10γ/cc, PAS 1γ/cc, INH 1γ/cc 培地にも少数の集落が生じて不完全耐性と判定された。しかし日常の耐性検査が行はわれる条件下では感受性株が SM10γ/cc, PAS1γ/cc, INH 1γ/cc の各々に完全耐性として表現される事は殆ど起り得ないと考えて良いと思われる。

次に, どの位の割合に耐性菌が含まれている菌株からは, 培地上の集落をどの位, 採取して検査すれば耐性菌を見逃がさず, 耐性菌の量的分布を比較的正しく再現し得るかに関しては, 約0.1%~10%の耐性株から耐性菌を検出するためには培地斜面上の全集落の約1/3以上を採取する必要がある様に思われた。採取集落数が10コの場合でも, 約0.1%含まれている SM 耐性菌を検出しているが, 之は多分に偶然性に左右されたものと考えられる。

又, 耐性菌の量的分布の再現性に関してみると全集落数の約1/3を取った場合でも不十分であったが, 全集落から少量ずつ平等に採取した場合は, 被検株の耐性菌分布から予想される耐性分布, 即ち SM (+), PAS (++) , INH (卅) 対照(卅)という判定成績を概ね再現し得た。しかし, たとえ集落採取が良好な場合でも接種菌量が多過ぎると, 表12の成績にもみられる如く, 本来不完全耐性株が完全耐性(不確定)を示し, 耐性分布の再現性が困難となるので, 適切

な菌量を接種することが望ましい。

第4章 結 語

著者の検討によれば, 耐性検査に於ける耐性菌の量的分布に影響を及ぼす諸因子の中, 最も重大なるものは接種菌量, 殊に接種生菌量であって見かけ上, 同じ菌液濃度を示した場合でもその中に含まれている生菌単位数は分離増菌用培地の種類, 培養期間(即ち菌の古さ), 集落磨砕時間の長さによって相当な差異を示す事を知った。

一方, 菌液分散媒の種類, 遠沈による粗大菌塊除去の有無や菌液濃度判定に用いる標準液の種類には著明な影響をうけなかった。

接種菌量と耐性菌検出率との関係は, 接種菌量の多い場合には少数しか含まれていない耐性菌をも検出可能であったが, 菌量が少ない場合には検出不可能であり, 感受性と判定された。但し, 接種菌量の多い場合は本来不完全耐性であるべき株が完全耐性(不確定)に判定される傾向がみられた。

従って, 接種菌量には目的によって上限及び下限のある事が判った。臨床家の立場から, まだ薬剤が少しでも効くかどうかを知るために, 菌量を少なく(10^{-4} mg)接種し, 薬剤の効力が少しでも低下しているかどうか知るために, 菌量を多く(10^{-1} mg)接種する, 即ち“2段階の菌量”で検査を行なうのが良いと考えられた。

又, 不良条件下で耐性検査が行なわれた場合には感受性菌でも SM 1γ/cc, INH 0.1γ/cc に完全耐性に判定される可能性があり, 更に培養期間が4週から6週になると, SM 10γ/cc, PAS 1γ/cc, INH 1γ/cc の各培地にも少数の集落が生じ, 不完全耐性と判定される場合のある事を認めた。

次に, 培地上の集落の中からどれ位の数を集めて検査すれば満足すべき成績が得られるかという集落採取箇数の問題を検討し, 耐性菌の量的分布の再現性の関係では, 約0.1%に耐性菌を含む株から耐性菌を検出するためには, 培地斜面の少なくとも約1/3以上の集落を採取する必要がある, 一方被検株の耐性分布を正しく再

現するためには培地斜面上の全集落から少しづつ平等に採取することが必要である事が判った。この場合でも接種菌量が多過ぎる、本来不完全耐性を完全耐性（不確定）と誤まる可能性がある。

〔全篇のまとめ〕

同一株の研究協力に施設における耐性検査成績は、耐性の高さの点でも、耐性菌の量的分布の点でも施設間に著明な相違のあることがみられた。

この事から、著者は各施設の耐性検査術式を詳しく調べたところ、耐性検査成績を不安定にせしめる因子の数多くあることに気づいた。

そこで、著者はこれら諸因子の中、主なるものについて基礎的実験を行なったのである。

その結果、先づ、耐性の高さの判定に対して最も重大なる影響を及ぼしたものは、SM では耐性培地の PH であり、PAS では接種菌量及び培養期間であり、INH では耐性培地保存温度及び保存期間であった。

耐性菌の量的分布の判定に最も大きな影響を及ぼしたものは接種菌量殊に接種生菌量及び集落採取箇数であった。

耐性検査の臨床的な目的は、一つは薬剤の効力が既に少しでも落ちてはいしないかを知ることと、今一つは当該薬剤が未だ少しでも効果があるかどうかを知ることとに集約されると思われる。従って、前者の目的のため、換言すれば少数箇の耐性菌でも検出するためには接種菌量を多く (10^{-1}mg)、又後者の目的のため、換言すれば被検株中に感受性菌が尚存在している事を証明するためには接種菌量を少なく (10^{-4}mg) して検査を行う方がよいと実験の結果から考えられた。

従って、現行の耐性検査法の定める如く、一段階の接種菌量 (10^{-3}mg 又は 10^{-4}mg) では上記二つの目的を満足せしめることは不十分ではないか、たとえ、被検薬剤濃度の数は減らすとも、接種菌量は 10^{-1}mg 及び 10^{-4}mg の二段階で耐性検査を行なう必要があると考える。

攔筆にあたり御指導を賜りました本研究室の前川助教授、吉田敏郎博士に、又本実験に関して懇切なる御指導を賜りました津久間博士に深く感謝致します。

文 献

- 1) 吉原：京大結研紀要，12-1：52～57，昭38
- 2) 東村：日本胸部臨床，21-5：370，1962
- 3) 永坂：結核，36-7・8：484，1961
- 4) 杉山：臨床と研究，34-4：328，昭29
- 5) 小川（政）：最新医学，9-2：2，昭29
- 6) 小酒井：治療，44-12：151，1962
- 7) 厚生省衛生検査指針，I～(6)，昭34
- 8) 吉原：京大結研紀要，11-1：44，昭37
- 9) 小川（辰）：結核研究の進歩，30：4，昭36
- 10) 佐藤（直）：医学と生物学，31-5：250，昭29
- 11) 工藤（祐）：結核，36-7・8：480，1961
- 12) 小酒井：日本臨床結核，15-4：250，昭31
- 13) H. Hackel：Tbk-Arzt，9-8：472，1955
- 14) 小森：臨床と研究，38-7：98，昭36
- 15) 島田（英）：結核，35-10：679，昭35
- 16) 林（治）：Modern media，9：140，1963
- 17) 島田（英）：結核，35-9：622，1960
- 17) P. J. Coletsos：Poumon，19-2：109，1963
- 19) Edwin A. Brosbe et al：Am. Rev. Resp. Dis.，75-1：131，1957
- 20) Georges Canetti：Bull. International. Union Tuberc.，25-3・4：149，1955
- 21) 佐藤（直）：結核の臨床，2-5：430，昭29
- 22) 河盛他：結核，37-4：160，昭1962
- 23) 安保・東村：結核，36-3：129，昭36
- 24) 津久間他：京大結研紀要，8-1：3，昭34